Dr F.BOUBRIT

Examen cytobactériologique des pus (suppurations)

I. Introduction-Généralités

* Les prélèvements de pus et sérosités correspondent à un ensemble de prélèvements comprenant **les liquides organiques** (péritonéaux, péricardiques, et pleuraux) **les liquides articulaires, les hématomes, les abcès, les lésions superficielles de la peau et des tissus.**
* Il se forme du pus au cours d'infections urinaires, respiratoires, méningées, génitales et même intestinales.
* **Toutes les espèces bactériennes pathogènes et même quelque fois celles réputées non pathogènes** peuvent être mises en causes.
* Il convient de comprendre que l'infection peut survenir dans des foyers **ouverts** cutanéo-muqueux avec contamination inévitable par une flore commensale de voisinage ou qu'il peut s'agir d'infections fermées en tissus sains où le mécanisme est circulatoire et métastatique.

II. Rappels physiopathologiques:

1- Généralités sur la genèse d'un pus :

* La formation d'un pus est l'un des signes les plus caractéristiques d'une infection.
* Le pus est constitué de cellules à activité phagocytaire (en général des polynucléaires neutrophiles altérés) et de bactéries (pas toujours très nombreuses à l'examen direct).
* Les cellules en activité phagocytaire sont attirées au foyer infectieux par diverses substances constitutives la paroi des bactéries : la **muréine** joue le rôle le plus actif, mais d'autres polysaccharides possèdent, à un degré moindre, cette propriété.
*
* Les germes dont la paroi est la plus riche en muréine (Staphylocoques, Streptocoques) attirent massivement les polynucléaires, le pus est alors abondant : ces germes sont dits pyogènes.

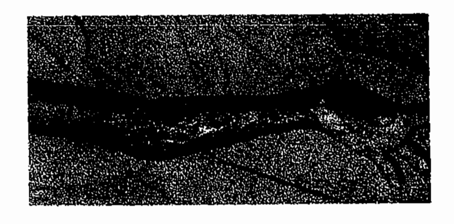
2- Origine des suppurations :

A / Les suppurations primitives :

Les exemples typiques en sont **l'anthrax staphylococcique** ou le **furoncle**. Ces infections surviennent spontanément sur un terrain éventuellement affaibli et succèdent à des petites infections localisées (gaine du poil).
Plus graves certaines suppurations primitives sont d'origine hématogènes et touchant par voie sanguine ou par voie lymphatique, des organes profonds ou des séreuses (abcès hépatiques, ostéomyélites, certaines arthrites sont de cette origine)

B / Les suppurations secondaires :

Sont dues à des manœuvres chirurgicales, traumatisme ou encore un facteur local favorisant les infections (escarres, ulcères variqueux, brûlures...).



3- Facteurs favorables à l'infection suppurée :

Ils sont **multiples** :

* Traumatismes ;
* Obstruction d'une voie d'excrétion normale (ex : glandes sudoripares , voies biliaires, arbre bronchique , voies urinaires) ;
* Ischémie (Infractus , gangrène) ;
* Substances chimiques irritantes (ex : contenu gastrique , bile injecté par voie I.M ...);
* Formation d'un hématome ;
* Accumulation d'un liquide de sécrétions (obstruction lymphatique , œdème cardiaque ...) ;
* Corps étrangers (ex : balles , éclats , fils de suture ...) ;
* Troubles vasculaires ...

4- Les principaux types de suppuration :

A / Suppurations superficielles : Les germes pathogènes sont des contaminants de la peau ou de l'environnement :

* Infections d'escarres.
* Infections de plaies traumatiques ou chirurgicales.

B / Suppurations profondes :

* Abcès sous cutanés ou viscéraux
* Phlegmons.
* Adénites.
* Infections des séreuses.

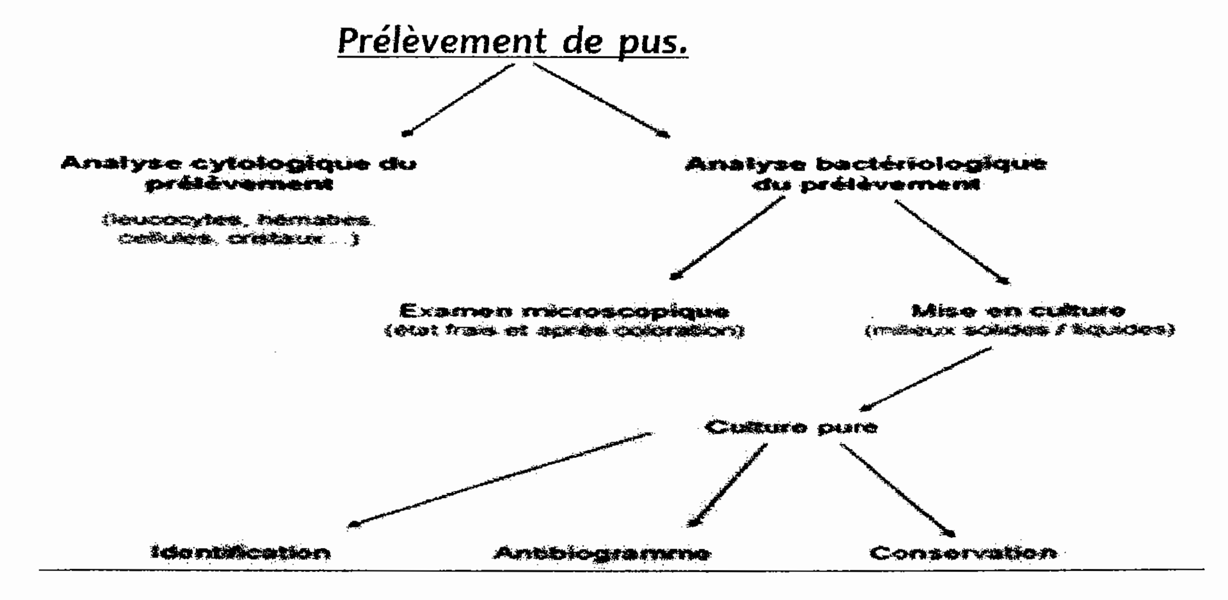
III. Conduite à tenir proprement dite :

* Les prélèvements sont d'origine très diverse.
* La mise en évidence des bactéries pathogènes dépend de la localisation de la suppuration (proche ou non d'une flore commensale, du mode de prélèvement (écouvillon, seringue, biopsie) et du mode de transport.

1- Objectifs :

✓ Faire le diagnostic de certitude d'une infection suppurative.
✓ Identifier le ou les agents microbiens responsables.
✓ Déterminer la sensibilité aux antibiotiques du germe incriminé.

2- Démarche diagnostique :



3- Prélèvements :

A / Fiche de renseignements :

Les renseignements cliniques doivent être correctement donnés :

* Identité du patient prélevé.
* Identité du médecin prescripteur.
* Examen demandé.

Pour une efficience maximale, la fiche de renseignements devrait contenir les informations complémentaires suivantes (Données obtenues par l'interrogatoire) :

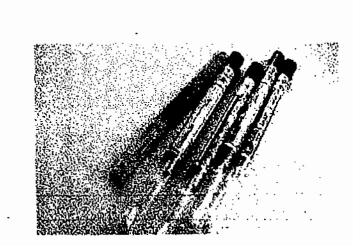
* Nature et localisation anatomique du produit pathologique.
* Méthode de prélèvements employée, si non usuelle.
* Circonstances epidémio-cliniques amenant la demande.
* Notion de traitement antibiotique, local ou général récent.

B / Conditions de Prélèvements :

Les prélèvements doivent être réalisés :

* Avant toute antibiothérapie préalable.
* Les règles d'hygiène doivent être respectées : dans des conditions extrêmement strictes d'asepsie, après désinfection soigneuse de la peau.
* L'étiquetage des prélèvements doit être rigoureux.
* Les délais d'acheminement doivent être respectés.
* Certains prélèvements se font dans un milieu spécialisé, et par un personnel qualifié.

C / Modes de prélèvements :



1- <u>Ecouvillons : (Nettoyage préalable)</u>

a / 02 écouvillons : ➔ Examen direct
➔ Culture.
(Si un seul écouvillon, se contenter d'une culture)
b/ On repérera et on prélèvera les traces purulentes qui devront être échantillonnées.
En leur absence le prélèvement devra être au fond de la plaie ou aux endroits où celle ci est peu accessible aux contaminations.
c/ Un écouvillon que l'on peut immerger ou imbiber de milieu de transport est préférable à un écouvillon sec qui ne permet pas la recherche de germes anaérobies.
d/ La qualité du diagnostic est inversement proportionnelle au temps passé avant la culture.

2- <u>Prélèvement à la seringue :</u>

* Se fait par ponction du pus ou de la sécrétion à analyser, après désinfection de la peau à l'alcool.
* On peut envoyer rapidement le prélèvement dans la seringue, après avoir recouvert l'aiguille de son capuchon et purgé l'air éventuellement présent.
* Si le délai est trop lent utiliser un milieu de transport dans lequel on injecte le prélèvement.
* Dans le cas particulier des **ponctions articulaires** : il faut faire en plus un prélèvement sur tube avec anticoagulant pour la cytologie de même qu'il faut penser à ensemencer parallèlement un flacon à hémoculture si on suspecte une brucellose.

D / <u>Transport</u>

* Les prélèvements doivent être réalisés stérilement, acheminés immédiatement au laboratoire pour éviter la prolifération des bactéries commensales (Prélèvements non protégés) et la mort des bactéries pathogènes fragiles.

➢ Si le laboratoire est éloigné, utiliser :
  ✓ Milieux de transport aéro-anaérobies pour bactéries fragiles et anaérobies (type Portagerm®, TGV®).
  ✓ Milieux d'hémocultures.
➢ A + 4°C : lyse des leucocytes en quelques heures + mort des bactéries fragiles.
➢ L'ECB du pus ne doit pas être différé dans le temps.

IV. <u>Conduite de l'examen cytobactériologique :</u>
1- <u>Aspect macroscopique :</u>

On note la consistance, la couleur, l'aspect, ainsi que la viscosité du pus.
Le pus peut être épais, visqueux, élastique, mélangé au sang ou non, fluide ou séreux.
La couleur varie de la teinte chocolat au blanc, certains pus sont verdâtres ou bleutés.
* Lorsqu'un prélèvement est assez abondant, l'examen macroscopique (odeur , couleur de pus) peut fournir des renseignements intéressants :

✓ l'odeur nauséabonde des pus à anaérobies,
✓ l'aspect granuleux, mal lié, des pus à streptocoques,
✓ les pus crémeux à Staphylocoques ou à Pneumocoques sont des éléments d'orientation dont il faut tenir compte.

2- Analyse microscopique :

- L'examen microscopique est fondamental et est indispensable.Il permet d'orienter le diagnostic. Dans tous les cas, il permet d'envisager la suite des examens à effectuer.
- L'examen direct a donc une forte valeur pour le choix des milieux d'isolement.

2.1. Examen direct à l'état frais :

* Une goutte du prélèvement est déposée sur lame porte-objets. On ajoute une lamelle puis on observe au microscope optique, au grossissement x40.
* Cet examen permet de
  * Distinguer les cellules d'accompagnement : soit des PN ou des lymphocytes (étude qualitative et quantitative).
  * Constater l'état des cellules (intactes ou altérées).
  * Observer la morphologie et la mobilité des bactéries éventuelles.
* L'examen cytologique consiste à apprécier le degré d'altération et le nombre des polynucléaires neutrophiles et, éventuellement, la présence d'autres cellules.

2.2. Examen direct après coloration

Au microscope optique, grossissement X 100.

A. Coloration de Gram : On notera :

- ✓ la présence ou l'absence de bactéries (une ou plusieurs espèces), leur morphologie, leur position intra ou extracellulaire,
- ✓ en cas de pus polymicrobien, l'espèce dominante, et leur abondance.

B. Coloration au bleu de methylène :

Cet examen permet de :

* Confirmer les résultats de l'examen à l'état frais (nature des éléments cellulaires, leur état, et le calcul de leur %) .
* Observer éventuellement les bactéries (forme et disposition).
* Devant un pus amicrobien et / ou si la cytologie révèle une majorité de lymphocytes, la recherche des Mycobactéries s'impose. Une coloration de Ziehl sera alors nécessaire.

3- Culture : C'est l'élément clé de diagnostic

- Des isolements sur différents milieux sont réalisés en tenant compte de la fiche de renseignements cliniques et des examens macro et microscopiques sur :
- Gélose au Sang Cuit incubée sous CO 2,
- Gélose au Sang Frais,
- Gélose Chapman,
- Gélose Hecktoen,
- Gélose Columbia au sang frais incubée en anaérobiose 48 heures à 05 à 07 jours en anaérobiose,
- Gélose Loweinstein Jensen (si suspicion de Mycobactéries),
- Autres types de milieu si le clinicien oriente vers certains types particuliers de germes.

L'identification est ensuite effectuée sur les différents types de germes isolés et purifiés.

Résultats de la culture :

* Recherche de bactéries Aérobies, Anaérobies et éventuellement des Mycobactéries

Antibiogramme sur les bactéries estimées pathogènes.

V. Interprétation :

Suppurations superficielles ou profondes en continuité avec le milieu extérieur (ex : abcès fistulisé):

Les germes isolés peuvent être des contaminants.

L'interprétation sera aidée par l'ED, les espèces quantitativement plus importantes ayant plus de chance d'être en relation ave l'état pathologique constaté.

De même l'isolement répété d'un germe réputé non pathogène (Staphylococcus epidermidis) dans les prélèvements successifs pourra faire soupçonner sa participation au processus suppuratif.

Suppurations profondes et fermées :

En général sont monomicrobiennes et ne posent pas de grands problèmes d'interprétation.

	Infection cutanée	pleurésie	péritonite	ostéite	arthrite
Neisseria (meningitidis Gonorrhoae)					+
Staphylococcus aureus	+	+	+	+	+
Staphylococcus Coagulase négative			+ DPCA		
Streptococcus A	+	+	+	+	+
Autres streptocoques			+D	+B	
pneumocoque		+	+		
Entérobactéries	+	+	+	+	+
Pseudomonas aeruginosa	+	+			+
Haemophilus influenzae		+			+
Anaérobies	+	+	+		
Mycobactéries		+	+	+	+
Candida albicans	+	+			